

学 位 論 文 要 約

Antifibrotic effects of ambrisentan, an endothelin-A receptor antagonist, in a non-alcoholic steatohepatitis mouse model

(非アルコール性脂肪肝炎マウスモデルにおけるエンドセリンA受容体拮抗薬であるアンブリセンタンの抗線維化効果)

(著者：岡本敏明、孝田雅彦、三好謙一、斧山巧、木科学、的野智光、杉原誉明、
法正恵子、岡野淳一、磯本一、村脇義和)

平成28年 World Journal of Hepatology 8巻 933頁～941頁

非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) は、肝臓の脂肪沈着、炎症、線維化に特徴づけられる。肥満とインスリン抵抗性に関連して起こる肝細胞の脂肪沈着は、多くの患者において良性の経過を取るが、酸化ストレスや種々のアディポカイン、サイトカインのような様々な障害に応答して、脂肪沈着に加え、炎症と線維化が起こることがある。類洞内皮細胞と肝星細胞から放出されるエンドセリンは、肝星細胞を活性化し、コラーゲンの合成を促進させ、肝線維化に関与している。NASHにおいて血清のエンドセリンは高値を示し、その程度は肝線維化の重症度と相関している。アンブリセンタンはエンドセリンタイプA受容体拮抗薬であり、肝硬変ラットにおいて肝線維化を改善させることが知られているが、NASHにおける効果は知られていない。本研究の目的は、ヒトNASHに類似した雄性的FLS-ob/obマウスにアンブリセンタンを投与し、肝脂肪化と線維化において、その効果を評価することである。

方 法

雄性的FLS-ob/obマウス13匹をコントロール群 (con群) 5匹、Ambrisentan (Amb) 投与群8匹に分けた。Amb群は生後12週齢より胃ゾンデを用いて経口的にAmb 5 mg/kg/dayを4週間連日投与した。両群マウスを16週齢でと殺し、肝線維化をSirius red染色による線維化面積、及び肝hydroxyprolin(Hyp)量で評価した。肝において線維化因子であるprocollagen-1、TGF- β 1、CTGF、TIMP-1、炎症関連因子TNF- α 、MCP-1、脂質関連因子PPAR- α 、SREBP1c、MTP、FAS、ET-1関連因子ET-1、Ece1、Nos2、ETAR、ET B receptor (ETBR) の遺伝子発現をreal time PCRで測定した。肝星細胞の活性化は α SMA染色にて、肝脂肪化はOil red O染色にて、肝酸化ストレスは4-HNE染色、8-OHdG染色にて、クッパー細胞はF4/80染色にて評価した。

結 果

Con群とAmb群において、体重、肝重量、AST、ALTに有意差は認めなかった。脂質代謝において、Con群とAmb群では血清総コレステロール、血清中性脂肪、脂肪含有量、脂肪面積、脂質関連遺伝子に有意差は認めなかった。肝線維化において、Sirius red染色における肝線維化面積率は、Amb群はCon群に比べて有意な低下を認めた。肝Hyp量も、Con群に対してAmb群では有意な減少を認めた ($P=0.0136$)。肝における線維化関連遺伝子procollagen-1、TIMP-1の発現は、Amb群で有意に低下した。炎症に関しては、F4/80陽性細胞に両群間で有意差は無く、関連遺伝子であるTNF- α 、MCP-1も有意差は認めなかった。酸化ストレスについても、4-HNE、8-OHdGに有意差は認めなかった。ET関連遺伝子の発現に関しても、両群間で有意差は認めなかった。

考 察

本研究では、アンブリセンタンは脂質代謝には影響を与えず、肝線維化の進行を有意に抑制したことから、アンブリセンタンは肝の脂肪化を改善させることなく、線維化を減少させることが示唆された。これまでの研究では、エンドセリンは脂肪細胞における脂肪分解を増加させ、肝の脂肪化を増悪することが報告されている。一方、高レプチン血症ではNASH肝硬変ラットにおいてエンドセリンの感受性を調節することが報告されており、レプチン欠損マウスであるFLS-ob/obマウスでは、脂肪化におけるエンドセリンの感受性が低下しているため、FLS-ob/obマウスを用いたin vivoの実験では、アンブリセンタンが肝臓における脂肪代謝へ関与しなかったものと考えられた。肝線維化に対しては、アンブリセンタンは、肝星細胞の活性化を抑制することで、肝Hyp量や肝線維化面積を減少させた。肝星細胞は酸化ストレスやサイトカイン、炎症によって活性化されるが、アンブリセンタンは酸化ストレスや炎症反応には影響を与えなかったため、直接肝星細胞の活性化を抑制しているものと考えられた。また、アンブリセンタンは、procollagen-1、TIMP-1の発現を抑制することで、肝線維化の抑制にも関与していた。

結 論

エンドセリンA受容体拮抗薬であるアンブリセンタンは、NASHにおいて脂肪化や炎症の改善は認めなかったが、肝星細胞の活性化を抑制し、procollagen-1、TIMP-1の発現を抑制することで肝線維化を改善した。